

Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶)

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|------------|---------------------------|------|
| P2157-1ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 1ml |
| P2157-5ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 5ml |
| P2157-20ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 20ml |

产品简介:

- 碧云天的Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶), 也称Biotin琼脂糖凝胶或Biotin Agarose Resin, 由高质量的生物素(Biotin)与高度交联的6%琼脂糖共价偶联而成, 能够快速、高效、灵敏、特异性地与链霉亲和素(Streptavidin)或亲和素(Avidin)以及偶联了链霉亲和素或亲和素的抗体、核酸、蛋白、多肽、凝集素等分子结合。主要用于分离纯化偶联了亲和素或链霉亲和素的核酸、抗体、蛋白或相关复合物等, 用于免疫沉淀(Immunoprecipitation, IP)、细胞分选、DNA-蛋白相互作用研究等。
- 生物素(Biotin), 即维生素B7(Vitamin B7), 也称D-Biotin、维生素H (Vitamin H)、Biso II、I、辅酶R (Coenzyme R), 是B族维生素之一[1]。生物素被归类为杂环化合物, 具有含硫环稠合脲基(Sulfur-containing ring fused ureido)和四氢噻吩基团(Tetrahydrothiophene group) [1, 2]。含有-N-CO-N-基团的脲基环(Ureido ring)在羧化反应中充当二氧化碳载体。生物素参与碳水化合物的消化、脂肪酸的合成和糖异生(Gluconeogenesis)等代谢过程。核染色质中组蛋白的生物素化在染色质稳定性和基因表达中发挥重要作用。生物素还可作为羧化酶(如丙酮酸羧化酶)的辅助因子, 催化丙酮酸和二氧化碳形成草酰乙酸[2]。
- 生物素是一种小分子, 它的存在不会影响大分子的生物学功能。生物素广泛应用于生物素-(链霉)亲和素系统(biotin-(strept)avidin system), 而且生物素是羧化酶的重要辅助因子, 存在于各种代谢途径中[2]。生物素与亲和素(Avidin)或链霉亲和素(Streptavidin)的结合有助于将目标分子(抗体、核苷酸、蛋白A等)与标记系统(酶、荧光、化学发光探针)连接起来。这种复合物用于许多检测系统, 例如免疫沉淀、免疫组织化学/流式细胞分析、Southern和Northern等。同时, 这种方法也适用于各种目标分子的纯化和表征。此外, 生物素还可用于培养少突胶质细胞, 作为芽孢杆菌属物种生长的维生素补充剂, 在免疫组织学过程中阻断内源性生物素[3]。
- 生物素琼脂糖凝胶在生物医药领域内应用非常广泛, 可以特异性地结合(链霉)亲和素偶联的抗原或者抗体, 作为免疫沉淀、细胞分选、ELISA等反应的载体; 结合(链霉)亲和素偶联的DNA或RNA片段, 从细胞或组织提取物中分离特定的核酸-蛋白质复合物, 用于蛋白质与核酸相互作用研究; 结合(链霉)亲和素偶联的核酸探针, 用于DNA、RNA杂交实验或mRNA的分离和纯化等; 还可用于纯化单链(链霉)亲和素偶联的DNA寡核苷酸、分离(链霉)亲和素偶联的PCR产物等。本产品的实验流程参考图1。

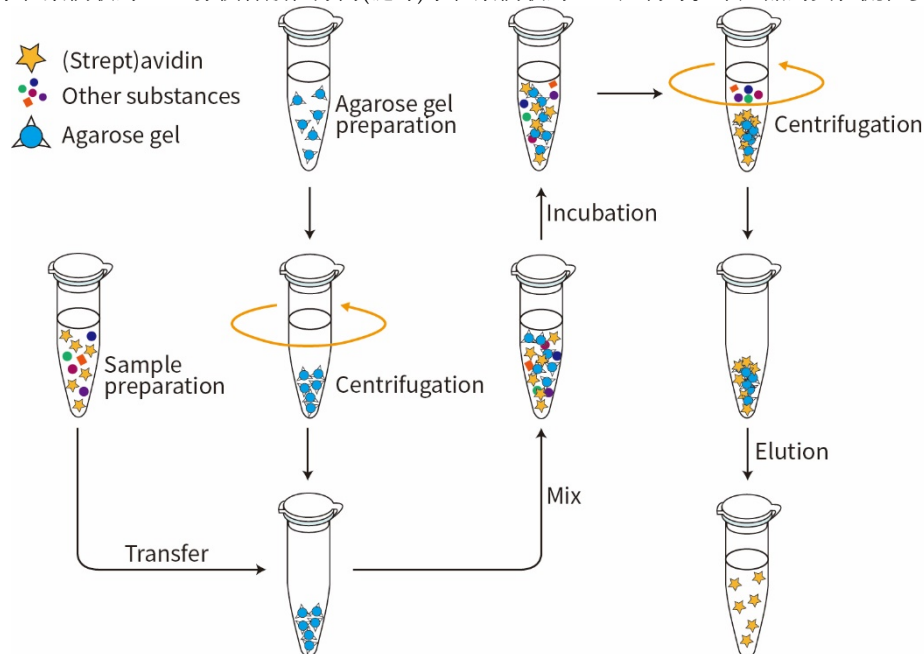


图1. 碧云天Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) (P2157)的实验流程图。

- **本产品结合容量高。**与同类的很多产品相比, 本产品具有非常高的结合容量, 对复杂样品中(链霉)亲和素偶联的分子可以快速进行分离纯化。本产品中Biotin Agarose为50%的凝胶悬浊液, 每毫升Biotin Agarose沉淀中偶联有1-1.5 μ mol生物素, 可结合约10-20mg(链霉)亲和素, 可高效地进行免疫沉淀等实验。本产品用于Streptavidin的结合效果参考图2。

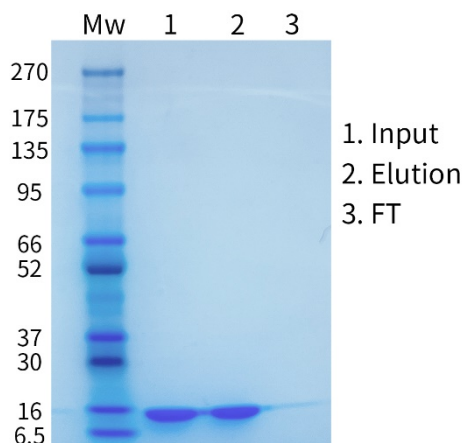


图2. 碧云天Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) (P2157)用于Streptavidin的结合效果图。泳道1为Input, 即为Streptavidin; 泳道2为本产品结合的Streptavidin, 结合后使用1X SDS-PAGE Loading Buffer进行洗脱并进行SDS-PAGE; 泳道3为本产品结合Streptavidin后的上清液(FT)。图中约13kDa处的条带为Streptavidin的单体。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- **本产品特异性强。** 本产品可特异性地结合(链霉)亲和素偶联的抗体、核酸、蛋白、多肽、凝集素等配体分子, 获得的产物纯度高, 可进一步用于Western、ELISA、Northern、qPCR、质谱分析等一系列后续的分析测试。
- **本产品使用便捷。** 本产品储存在特殊保护液中, 不含甘油, 使用方便。本产品不仅适用于少量样本的检测, 也适用于高通量筛选(High-throughput screening)的自动化操作系统, 不同操作方法之间一致性高。
- 本产品的主要指标如下表:

| Characteristics | Description |
|-----------------------|---|
| Product content | 50% settled gel in specific protective buffer |
| Agarose structure | 6% cross-linked agarose |
| Average particle size | 45-165 μ m |
| Coupled Ligand | Biotin |
| M.W. of Ligand | 244Da (Biotin) |
| Ligand concentration | 1~1.5 μ mol Biotin per ml settled gel |
| Binding capacity | Per ml settled gel: 10-20mg streptavidin |
| Specificity | (Strept)avidin coupled ligands |
| Elution method | Elution with acid or SDS-PAGE loading buffer for single-use applications |
| Application | Purification of (strept)avidin-coupled proteins and nucleic acids, IP, Co-IP, DNA-protein pulldowns |

- 本产品为50%凝胶悬液, 包装体积为总体积, 每毫升本产品中共含有0.5ml凝胶沉淀物。如果每个样品使用50 μ l琼脂糖凝胶悬液, 每毫升本产品可以用于20个样品反应。

包装清单:

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|------------|---------------------------|------|
| P2157-1ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 1ml |
| P2157-5ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 5ml |
| P2157-20ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 20ml |
| — | 说明书 | 1份 |

保存条件:

-20 $^{\circ}$ C保存, 一年有效。4 $^{\circ}$ C保存, 至少一个月有效。

注意事项:

- 本产品使用前要适当充分重悬, 即颠倒若干次使琼脂糖凝胶混合均匀, 混匀操作须轻柔, 不宜剧烈涡旋震荡等, 避免蛋白变性、琼脂糖凝胶破碎等。
- 本产品含有微量的防腐剂, 使用前宜先用TBS等适当溶液洗涤凝胶3次, 以充分消除防腐剂可能产生的干扰。
- 在免疫沉淀或纯化时, 建议设计阳性和阴性对照组。
- 待结合分子的类型、大小及(链霉)亲和素偶联方式和程度等都会影响结合效率, 建议通过梯度稀释法来确定每种具体应用的琼脂糖凝胶用量, 同时可以考虑加大琼脂糖凝胶用量至待结合分子2-3倍摩尔数量以确保结合充分。
- 游离(链霉)亲和素会降低本琼脂糖凝胶对于目标蛋白复合物的结合量, 因此在(链霉)亲和素偶联蛋白或核酸后, 需要用适当方法去

除多余的游离(链霉)亲和素。

- 蛋白样品收集后宜尽快完成纯化工作，并应始终放置在4°C或冰浴，以减缓蛋白降解或变性。为有效抑制蛋白降解，可以在蛋白样品中添加适量的蛋白酶抑制剂混合物，例如碧云天的P1005/P1006蛋白酶抑制剂混合物(通用型, 100X)、P1048/P1049蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(通用型, 质谱兼容, 50X)、P1010/P1011蛋白酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 100X)、P1050/P1051蛋白酶磷酸酶抑制剂混合物(哺乳动物样品抽提用, 50X)等。
- 如果离心不能完全除去蛋白样品中的不溶物，可以将样品溶液用0.45μm的滤膜过滤。酸性溶液洗脱或使用SDS-PAGE洗脱后的琼脂糖凝胶不可重复使用。为了尽量减少生物素的脱落，无论是手动操作还是自动操作，低pH洗脱步骤都不要超过10分钟。
- 高浓度的DTT、巯基乙醇、盐酸胍等对本产品与配体的结合可能有一定影响，但Western及IP细胞裂解液(P0013)、RIPA裂解液(P0013B/C/D)或NP-40裂解液(P0013F)等都完全适用。碧云天生产的不同裂解液的主要特点和差异，以及如何选择裂解液可参考我们的相关网页：<http://www.beyotime.com/support/lysis-buffer.htm>。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 缓冲液的准备。参考下表，根据具体的实验用途配制相应的缓冲液。

| Buffer | Components | Application |
|---------------------------------|---|----------------------|
| TBS | Tris Buffered Saline (e.g. ST661/ST665) | Prewash |
| Binding & Washing Buffer I (2X) | 10mM Tris-HCl (pH7.5), 1mM EDTA, 2M NaCl, 0.01%-0.1% Tween-20 | for nucleic acid |
| Washing Buffer II (1X) | PBS (pH7.4), 0.05% Tween-20, with or without 0.01%-0.1% BSA | for antibody/protein |
| DNA/RNA Elution Buffer | 95% formamide, 10mM EDTA, pH8.2 | for nucleic acid |
| Acid Elution Buffer | 0.1M Glycine (pH2.8) or 8M Guanidine·HCl (pH1.5) | for antibody/protein |
| Neutralization Buffer | 1M Tris-HCl, pH8.5-9.5 | for antibody/protein |
| SDS-PAGE Loading Buffer | SDS-PAGE Loading Buffer (e.g. P0015) | for antibody/protein |

注1：可根据所结合分子的类型或实验需要，适当调整缓冲液的盐浓度及pH。

注2：Binding & Washing Buffer I (2X)用于洗涤时须用等体积超纯水稀释至1X。

2. 生物素琼脂糖凝胶准备。

- 取琼脂糖凝胶并去除上清。轻轻重悬生物素琼脂糖凝胶，尽量形成均匀的凝胶悬浊液，取20-100μl置于BeyoGold™ 1.5毫升离心管(无色, Nuclease free) (FTUB015)中待用。注：使用大孔径吸头(如用剪刀剪去部分吸头尖端)吸取凝胶悬浊液会比较方便。
- 洗涤琼脂糖凝胶。加入1X TBS (ST661/ST665)至最终体积为约0.5ml，轻轻重悬生物素琼脂糖凝胶。600×g在4°C离心5分钟，小心去除上清，不要吸到凝胶，完成一次洗涤步骤。然后再按照前述洗涤步骤，洗涤2次。最终去除上清，并根据后续的实验目的，用适量的适当溶液(参考步骤3a或4a)重悬生物素琼脂糖凝胶。
- 本琼脂糖凝胶及溶液并非RNase-free处理，如果用于RNA相关的应用，在上述洗涤后，用0.5ml DEPC处理过的0.05M NaCl洗涤琼脂糖凝胶2次，每次2分钟；然后再用0.5ml DEPC处理过的0.1M NaCl洗涤一次。根据后续的实验目的，按照初始体积的量，用适当溶液(参考步骤3a或4a)重悬生物素琼脂糖凝胶。

注1：通常，每个样品的琼脂糖凝胶用量约为20-100μl。具体可根据(链霉)亲和素偶联分子的多少，参考产品主要指标表中琼脂糖凝胶的‘Binding capacity’，计算(链霉)亲和素偶联分子的加入量。根据不同的实验目的，可以考虑(链霉)亲和素偶联分子的加入量为琼脂糖凝胶载量的1-2倍，使琼脂糖凝胶饱和，即把琼脂糖凝胶充分利用，此时通常实验目的是分离纯化；或者加入琼脂糖凝胶的载量是待分离纯化的(链霉)亲和素偶联分子的2-3倍，以确保(链霉)亲和素偶联分子能被充分分离纯化，此时通常实验目的是为了对样品中的(链霉)亲和素偶联分子进行定量分析。

注2：多个样品时，可以取总琼脂糖凝胶量合并洗涤处理后再平分到各个样品管中，洗涤液用量须相应增加。

注3：也可参考相关方法进行填柱并使用重力柱法或FPLC法进行纯化。

3. (链霉)亲和素偶联核酸的结合和洗脱。

- 琼脂糖凝胶重悬。按步骤2b或2c，用2倍原始琼脂糖凝胶体积的Binding & Washing Buffer I (2X)重悬琼脂糖凝胶。
- 核酸吸附。加入等体积的用超纯水配制的(链霉)亲和素偶联核酸样品(加入样品后体积为原始琼脂糖凝胶体积的4倍)，充分振荡混悬，置于侧摆摇床或旋转混合仪上，室温孵育10-30分钟或4°C孵育2小时，推荐使用BeyoShaker™数字式翘板摇床(E6673)或BeyoVortex™基础型旋转混匀仪(E6800)。注：可通过测定反应前后核酸的浓度，计算结合到琼脂糖凝胶上的核酸量。
- 洗涤。取1ml Binding & Washing Buffer I (1X)加入琼脂糖凝胶中，轻轻重悬琼脂糖凝胶，600×g在4°C离心5分钟，去除上清，不要吸到凝胶。再重复洗涤1-2次。
- 洗脱。加入100μl或适量的DNA/RNA Elution Buffer，65°C孵育5分钟或90°C孵育2分钟。

4. (链霉)亲和素偶联抗体或蛋白的结合和洗脱。

- 抗体或蛋白吸附。加入适量用Washing Buffer II (1X)稀释的(链霉)亲和素偶联抗体、蛋白、抗原抗体复合物或蛋白复合物，轻轻重悬琼脂糖凝胶，置于侧摆摇床或旋转混合仪上，室温孵育30-60分钟或4°C孵育4-16小时。
- 洗涤。取1ml的Washing Buffer II (1X)加入琼脂糖凝胶中，轻轻重悬琼脂糖凝胶。600×g在4°C离心5分钟，去除上清，不

要吸到凝胶。重复洗涤3-4次。

c. **洗脱。**根据目的核酸或蛋白的特点及后续实验要求，可以选择如下方法之一或其它合适方法进行洗脱。

(a) **酸性洗脱缓冲液洗脱。**每个样品加入100 μ l或适量Acid Elution Buffer，混匀后置于侧摆摇床或旋转混合仪上，室温孵育5分钟。然后置于离心机中600 \times g在4 $^{\circ}$ C离心5分钟，将上清转移到新的离心管中，然后加入15 μ l Neutralization Buffer进行中和。洗脱液置于4 $^{\circ}$ C待用，或者-20 $^{\circ}$ C长期保存。

注1：如果选择酸性洗脱缓冲液进行洗脱，就有可能发生生物素脱落，需注意孵育时间不要超过10分钟。

注2：酸性洗脱缓冲液能破坏绝大部分的抗体与抗原的相互作用。但为了确保更好的洗脱效果，可预先用300 μ l 0.1% Tween-20的水溶液洗涤琼脂糖凝胶1次。如果对洗脱效率的要求比较高，可用8M Guanidine·HCl (pH1.5)进行洗脱，相应的Neutralization Buffer的pH值或量也要进行一定的调整，例如100 μ l 8M Guanidine·HCl (pH1.5)和15 μ l 1M Tris-HCl, pH9.5。

(b) **SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS洗脱。**每个样品加入100 μ l或适量的1X SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS，95 $^{\circ}$ C加热3分钟。置于离心机中600 \times g在4 $^{\circ}$ C离心5分钟，取上清用于SDS-PAGE电泳或Western检测等。

注：如果选择SDS-PAGE Loading Buffer或0.1% SDS进行洗脱，那么洗脱液将包含生物素、(链霉)亲和素偶联抗体或蛋白。

参考文献：

1. Penberthy WT, Sadri M, Zempleni J. Present Knowledge in Nutrition, Eleventh Edition. 2020. pp. 289–304.
2. Waldrop GL, Holden HM, St Maurice M. Protein Sci. 2012. 21(11):1597-619.
3. Laitinen OH, Hytönen VP, Nordlund HR, Kulomaa MS. Cell Mol Life Sci. 2006. 63(24):2992-3017.

相关产品：

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|-------------------|--|-------------|
| P2151-200 μ l | BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠) | 200 μ l |
| P2151-1ml | BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠) | 1ml |
| P2151-5ml | BeyoMag™ Streptavidin Magnetic Beads (链霉亲和素磁珠) | 5ml |
| P2161-200 μ l | BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠) | 200 μ l |
| P2161-1ml | BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠) | 1ml |
| P2161-5ml | BeyoMag™ Biotin Magnetic Beads (生物素磁珠) | 5ml |
| P2157-1ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 1ml |
| P2157-5ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 5ml |
| P2157-20ml | Biotin Agarose (生物素琼脂糖凝胶) | 20ml |
| P2159-1ml | Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶) | 1ml |
| P2159-5ml | Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶) | 5ml |
| P2159-20ml | Streptavidin Agarose (链霉亲和素琼脂糖凝胶) | 20ml |

Version 2023.10.12